Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 1, 2024, p. 35-47

Assessment of Genetic Resistance of Safflower (*Carthamus tinctorius*) to Fusarium Damping Off in Greenhouse Condition

H. Sadeghi Garmaroodi[1*], H. Jabbari[2], M.R. Nazari[2], M.B. Valipour[3]

1- Associate Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
(*- Corresponding Author Email: h.sgarmaroodi@areeo.ac.ir)
2- Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
3- Safflower Expert, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

Received: 01-01-2024 Revised: 26-03-2024 Accepted: 09-04-2024 Available Online: 06-09-2024	**How to cite this article:** Sadeghi Garmaroodi, H., Jabbari, H., Nazari, M.R., & Valipour, M.B. (2024). Assessment of genetic resistance of safflower (*Carthamus tinctorius*) to fusarium damping off in greenhouse condition. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 38*(1), 35-47. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86136.1172

Introduction

The pathogenic fungus, *Fusarium oxysporum* f.sp. *carthami* (FOC) is one of the main causal agent of safflower damping-off in Iran and worldwide. Climate change and extending of safflower farming area, specifically in rainfed systems have caused considerable crop loss in recent years. This pathogen can cause damping-off in any growth stage.

Materials and Methods

The pathogen FOC was isolated from infected plants, purified by single sporing, identified to species level, followed by the pathogenicity test in the lab condition on the Petri plates containing SNA media using Soffeh, a cultivar of safflower. A high pathogenic isolate of FOC was selected for further investigation for disease resistance evaluation test in greenhouse condition. Resistance level of 16 safflower genotypes was determined using inoculum layer test method in which infestation of sterile soil was implemented using fungal mycelial mat cultured on agar disk. Each genotypes comprised of six replications. Three pots inoculated and three un-inoculated as the mock. 45 days later, the plants uprooted and washed. Since disease scoring might vary a lot in replications, three more traits including plant height, aboveground biomass weight and root weight were recorded in inoculated and un-inoculated pots and then compared with each other. In addition, disease severity (DS) using a 0-5 scale were recorded for each plant. Reduction percent of plant height (PHR), root weight reduction percent (RWR) and biomass reduction percent weight (PBR) were calculated using data obtained from inoculated and un-inoculated pots and subjected to statistical analysis using R programming software. Since dwarfing of the inoculated plants was an important symptom in the field and greenhouse, a disease index (DI) was identified by multiplication of PHR and DS for each genotype. All the traits were subjected to analysis of variance and comparison of means by least significant difference (LSD) method. Correlation test was conducted between all the traits to find if there is any statistically

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86136.1172

significant correlation between them. Reaction of genotypes to the disease was shown by a partitional cluster plot using k-means algorithm.

Results and Discussion

Different Fusarium species were isolated from infected root and crown of safflower. *Fusarium spp*. and *Macrophomina phaseolina* were the top two main agents of damping-off isolated from safflower farms in Karaj and Zabol. Three different pathogenic Fusarium species including *F. oxysporum*, *F. solani* and *F. verticillioides* were isolated out of 30 infected samples. G186 as a very aggressive isolate of FOC was selected in order to screen the genotypes in the greenhouse. Analysis of variance of the traits which measured in greenhouse showed that all of them are statistically different at 1% level. Least square difference (LSD) multiple comparison of the RWR trait showed that the cultivar Goldasht has the lowest decrease in root weight compared to the control. This cultivar had the lowest decrease in PBR and PHR traits among the genotypes as well. Comparing DI of 16 genotypes indicated that Goldasht had the lowest index followed by L160 and L136. Therefore, they can be considered the most tolerant ones to FOC. The Pearson correlation test suggested a statistically significant difference between the traits RWR and PBR. PHR had a stronger correlation with PBR, as well. Partitional clustering revealed 4 different clusters in which resistant genotypes including Goldasht, L160 and L136 grouped in the same cluster while the susceptible ones including Padideh, Ghazzaghi, L72 and L111 grouped together in another cluster.

Conclusion

Fusarium oxysporum was frequently isolated in Karaj and Zabol fields and is expected to be a major pathogen of safflower in other safflower growing areas that needs to be verified by collecting more samples. The inoculum layer test method of inoculation seems to be an effective method to cause disease symptoms on safflower genotypes. However, there should be more tests on safflower-Fusarium interaction using different Fusarium species., i.e. *F. solani* and *F. verticillioides* to find more sources of resistance using different methods of inoculations. Most of the worldwide researches on pathobreeding of safflower to Fusarium are conducting using FOC isolates. Isolation of *F. verticillioides* frequently in this research might indicate that this species can be an important threat to this crop in the coming years. This species is known to cause crop loss mainly in aboveground parts of corn and sorghum farms but now it is frequently observed in safflower fields. Application of machine learning techniques to cluster different genotypes based on their reaction to the disease might be regarded as a useful method to find reaction of each genotype to the disease more accurately.

Keywords: Damping-off, Fusarium, Safflower genotypes, Resistance

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸ شماره ۱، بهار ۱۴۰۳، ص. ۴۷-۳۵

تعیین مقاومت ژنتیکی ارقام و لاین‌های گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) به بوته‌میری فوزاریومی در شرایط گلخانه

حمید صادقی‌گرمارودی[1*]- حمید جباری[2]- محمدرضا نظری[2]- محمدباقر ولی‌پور[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۱

چکیده

قارچ بیمارگر *Fusarium oxysporum* f.sp. *carthami* (FOC) از عوامل اصلی بوته‌میری گلرنگ در ایران و جهان است. تغییرات اقلیمی و توسعه کشت گلرنگ به‌خصوص در زراعت دیم، سبب خسارت چشمگیر این بیماری شده است. گونه‌های متعددی از فوزاریوم به‌عنوان بیمارگر از ریشه و طوقه گلرنگ جدا و معرفی شده‌اند که در میان آنها گونه یادشده فراوانی و اهمیت بیشتری نسبت به سایر گونه‌ها دارد. به‌نظر می‌رسد که استفاده از مقاومت ژنتیکی یکی از مهمترین روش‌ها برای مدیریت این بیماری باشد. بیمارگر یادشده پس از جداسازی، خالص‌سازی و اثبات بیماری‌زایی در شرایط آزمایشگاهی، در آزمون‌های ارزیابی مقاومت ۱۶ ژنوتیپ گلرنگ به‌کار برده شد. در این آزمایش‌ها، از روش آلوده‌سازی خاک سترون با دیسک آگار حاوی پوشش قارچ بیمارگر FOC برای آلوده‌سازی ژنوتیپ‌های گلرنگ استفاده گردید. برای هر ژنوتیپ سه تکرار (گلدان) برای تیمار مایه‌زنی و سه تکرار برای شاهد بدون مایه‌زنی استفاده شد. در نهایت ۴۵ روز پس از مایه‌زنی، علاوه بر یادداشت‌برداری شدت بیماری با یک مقیاس شش قسمتی، ارتفاع گیاهان، وزن ریشه‌ها و وزن توده بخش هوایی برای هر تکرار اندازه‌گیری سپس درصد کاهش ارتفاع بوته‌ها، وزن ریشه‌ها و وزن توده بخش هوایی در مقایسه با شاهد برای هر تکرار محاسبه و با آزمون‌های آماری با یکدیگر مقایسه شدند. همه صفات اندازه‌گیری شده تفاوت‌های معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها در سطح ۱ درصد نشان دادند. مقایسه شاخص بیماری بین ژنوتیپ‌ها نشان داد که رقم گلدشت دارای پایین‌ترین نرخ آلودگی به فوزاریوم بوده و لاین‌های ۱۶۰ و ۱۳۶ به‌ترتیب در رده‌های بعدی قرار دارند، بنابراین دارای بیشترین سطوح مقاومت به قارچ FOC هستند. آزمون همبستگی پیرسون بین ۵ صفت اندازه‌گیری شده حاکی از وجود همبستگی معنی‌دار بین شاخص بیماری با شدت بیماری و درصد کاهش ارتفاع بوته‌های تیمارشده بود ($r = 0.72$). خوشه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از الگوریتم‌های خوشه‌بندی، ۱۶ ژنوتیپ مورد آزمایش را در چهار خوشه قرار داد. در این خوشه‌بندی، ارقام گلدشت، لاین ۱۶۰ و لاین ۱۳۶ در یک خوشه قرار گرفتند. ارقام حساس پدیده، توده محلی قزاقی، لاین ۷۲ و لاین ۱۱۱ نیز در خوشه جداگانه‌ای واقع شدند. در این تحقیق، خوشه‌بندی تفکیکی ژنوتیپ‌های گلرنگ با الگوریتم k-means توانست ژنوتیپ‌ها را از نظر حساسیت به بیماری در چهار گروه مختلف دسته‌بندی نماید که احتمالاً بتوان هر کدام از این خوشه‌ها را متناظر با یکی از واکنش‌های حساس، نسبتاً حساس، نسبتاً مقاوم و مقاوم در نظر گرفت. اگرچه در این تحقیق از گونه FOC برای ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های گلرنگ استفاده شد ولی گونه‌های دیگری مثل *F. solani* و *F. verticillioides* نیز دارای فراوانی قابل توجهی بودند که بیماری‌زایی آنها در شرایط آزمایشگاهی نیز تأیید گردید. بنابراین لازم است در آزمون‌های ارزیابی مقاومت، آزمایش‌های جداگانه‌ای برای هر کدام از آنها انجام پذیرد.

واژه‌های کلیدی: بوته‌میری، ژنوتیپ‌های گلرنگ، فوزاریوم، مقاومت

۱- دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۲- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۳- کارشناس، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: h.sgarmaroodi@areeo.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86136.1172

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) گیاهی است چندمنظوره که برای تولید روغن، گل، علوفه و مواد دارویی و آرایشی در بیش از ۶۰ کشور دنیا کاشته می شود (Emongor & Oagile, 2017). این گیاه مخصوص مناطق خشک که دارای باران‌های فصلی هستند، می‌باشد. ریشه اصلی ممکن است ۳-۲ متر در خاک نفوذ نماید. ریشه های عمیق آنها در تحمل به خشکی نقش مهمی دارند. روغن گلرنگ غنی از اسیدهای چرب اشباع نشده است که نقش مهمی در کاهش سطح کلسترول خون دارد. روغن گلرنگ در بیشتر ارقام موجود حاوی ۷۵-۷۰ درصد لینولئیک اسید (18:2) هستند (Velasco & Fernandez-Martinez, 2001). در سال‌های اخیر جمع‌آوری گلچه‌های گلرنگ در کشور به ارزش اقتصادی این محصول افزوده است. تحقیقات نشان داده که جمع‌آوری گلچه‌ها در بازه‌های زمانی که ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد غوزه‌ها شکوفا شده‌اند، تأثیری در عملکرد محصول ندارد (Kizil *et al.*, 2008).

متاسفانه روند کاشت و تولید این محصول در پنج سال گذشته در سطح جهانی کاهشی بوده است. تولید جهانی این محصول در بین سال‌های ۲۰۱۶ تا ۲۰۱۹ با افت چشمگیری از ۱۱۷۰ هزار هکتار به حدود ۶۵۰ هزار هکتار رسیده اگرچه در سال‌های ۲۰۱۹ تا ۲۰۲۱ با روندی آرام سطح زیرکشت آن افزایش یافته و طبق آخرین آمار در سال ۲۰۲۱ به ۸۵۰ هزار هکتار رسید. سطح زیرکشت این محصول در کشور در سال ۲۰۱۶ از ۴۱۰۰ هکتار به ۳۷۳۰ هکتار در سال ۲۰۲۱ رسیده است. کشورهای قزاقستان، روسیه، آمریکا، هند و مکزیک ۵ کشور برتر از نظر سطح زیرکشت گلرنگ در دنیا محسوب می‌شوند. تولید جهانی این محصول در سال ۲۰۲۱ بالغ بر ۶۶۴ هزار تن بوده است (Anonymous, 2019).

کاشت گلرنگ با تنش‌های زنده و غیرزنده متعددی روبرو می‌شود. در میان بیماری‌های رایج گلرنگ در دنیا، بوته‌میری گلرنگ از اهمیت خاصی برخوردار است. عوامل قارچی متعدد سبب این بیماری می شوند. اولین بار اوومیست *Phytophthora drechsleri* از بوته‌میری گلرنگ رقم فریو در کرج گزارش شد. همچنین قارچهای *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia solani* به‌ترتیب از دزفول و اهواز به عنوان عامل بوته‌میری گزارش شده‌اند (Ershad, 2009). علاوه بر عوامل یادشده، اوومیست *Pythium ultimum* و *Fusarium solani* نیز به‌عنوان عوامل بوته‌میری گلرنگ گزارش شده‌اند (Ershad, 2009; Abdollahi & Fasihiani, 1995). خسارت بوته‌میری گلرنگ در اصفهان حدود ۱۰ درصد یا بیشتر ارزیابی شده است (Behdad, 1990). قارچ *Macrophomina phaseolina* از دیگر عوامل مهم بوته‌میری در کشور بوده که برای اولین بار در سال ۱۳۸۱ در گرگان روی گلرنگ گزارش گردید (Razavi & Pahlavani, 2004). قارچ گرمادوست ماکروفومینا در سال‌های اخیر به‌دلیل گرم شدن هوا و تغییر اقلیم اهمیت خاصی پیدا کرده است. در میان عوامل متعدد قارچی معرفی شده، دو قارچ فوزاریوم و ماکروفومینا در مشاهدات میدانی به‌کرات مشاهده شده‌اند و باعث خسارت اقتصادی در زراعت‌های آبی و دیم می‌شوند، بنابراین در برنامه‌های به‌نژادی گلرنگ در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر مورد توجه قرار گرفته‌اند.

قارچ *Fusarium oxysporum* Schlecht. f.sp. *carthami* Klisiewicz and Houston (FOC) برای اولین بار در آمریکا از بوته‌های آلوده جدا شد. این قارچ خاکزاد و بذرزاد بوده و در هندوستان مهمترین عامل بوته‌میری گلرنگ محسوب می‌گردد (Sastry & Chattopadhyay, 2003).

مدیریت بوته‌میری فوزاریومی بسیار مشکل بوده و نیاز به اعمال راهکارهای چندجانبه دارد. قارچ عامل به‌صورت کلامیدوسپور درخاک بقا داشته و می‌تواند به‌صورت گندروی بر روی بقایای گیاهی زنده بماند. ترکیبی از کنیدیوم، هیف و کلامیدوسپورها زادمایه قارچ برای ایجاد آلودگی در سال‌های بعد هستند. انتشار عامل بیماری از طریق خاک‌های آلوده، آب آبیاری، تولید کنیدیوم‌های هوازی و لوازم کشاورزی صورت می‌گیرد (Singh & Kapoor, 2018). در بین روش‌های مختلف کنترل بیماری، استفاده از ارقام مقاوم اقتصادی‌ترین و از نظر محیطزیست سالم‌ترین روش کنترل بیماری محسوب می‌گردد (Sastry & Chattopadhyay, 2003). ولی بهرحال استفاده از ارقام مقاوم گاهی به‌دلیل ورود نژادهای جدید بیمارگر با چالش جدی روبرو می‌گردد (Raghuwanshi *et al.*, 2008).

علائم بیماری به‌صورت پژمردگی و زردی برگ‌های مسن و پایینی گیاه صورت بروز می‌کند که بعداً به برگ‌های بالائی سرایت می‌کند. کلروز معمولاً در یک سمت گیاه مشاهده می‌شود. اگر آلودگی در مرحله گیاهچه‌ای رخ دهد کوتاهی بوته‌ها به‌وضوح مشاهده می شود. اگر ارقام حساس در مزارع آلوده کاشت شوند خسارت تا ۱۰۰٪ هم خواهد رسید.

افزودن مواد آلی به خاک باعث کاهش بیماری و افزایش قدرت نگهداری آب خواهد شد. کاشت بذور گلرنگ در خاک‌های گرم که روند تندش بذر را تسریع می‌کند در فرار از بیماری نقش مهمی دارد. تناوب زراعی ۳ ساله و یا بیشتر با گندمیان و یا ذرت، عملیات زراعی برگردان سطحی خاک با چیزل بین ردیف‌های کاشت که در نفوذپذیری خاک مؤثر است، پرهیز از عملیات زراعی که باعث زخمی شدن ریشه‌ها می‌شوند، تنظیم فواصل آبیاری و پرهیز از کشت متراکم (فاصله کاشت ۷-۵ سانتی‌متری روی ردیف‌های کاشت) در کاهش

بیماری مؤثر است. استفاده از سموم کاپتان و ویتاواکس به‌صورت ضدعفونی بذر در کاهش شدت بیماری نقش مهمی دارد (Schwartz & Ghent, 2005).

نژادهای مختلفی از قارچ FOC در منابع گزارش شده‌اند (Klisiewicz & Thomas, 1970). لاین A14154، رقم Nebraska-6، US-10 و ژیلا از جمله ارقام افتراقی جهت تعیین نژادهای فیزیولوژیک این قارچ محسوب می‌شوند.

در تحقیقی که توسط شریف‌نبی و سعیدی در سال ۱۳۸۳ انجام گرفت، عامل بیماری بوته‌میری گلرنگ در استان اصفهان را *Fusarium solani* معرفی کردند (Sharifnabi & Saeidi, 2004)؛ بهرحال در بیشتر منابع عامل بیماری گونه *F. oxysporum* ذکر گردیده است (Raghuwanshi *et al*., 2008; Klisiewicz, 1980).

ارزیابی‌ها نشان داده که مواد ژنتیکی منشا گرفته از غرب آسیا منابع خوبی از مقاومت به این بیماری هستند (Klisiewicz, 1980). شریف‌نبی و سعیدی واکنش ۶۰ ژنوتیپ گلرنگ به بیماری فوزاریومی را در شرایط گلخانه‌ای بررسی کردند. ژنوتیپ‌های IUTE-14310 و IUTE-121 به‌ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ شناخته شدند. ارقام خارجی AC Sterling و Saffire به‌عنوان مقاوم و AC sunset به‌عنوان نسبتاً مقاوم شناخته شدند. رقم بومی کوسه که در سطح وسیعی در استان اصفهان کشت می‌شود به‌عنوان رقم حساس شناخته شد. در مجموع هفت ژنوتیپ مقاوم در طی این تحقیق معرفی شدند (Sharifnabi & Saeidi, 2004).

علاوه بر این، در تحقیق انجام شده توسط ناصحی و همکاران (Nasehi, *et al*., 2009) گونه *F. solani* عامل اصلی بوته‌میری گلرنگ در اصفهان معرفی گردید. بیماری‌زائی جدایه‌های مختلف فوزاریوم در شرایط گلخانه ای و واکنش ۲۱ ژنوتیپ گلرنگ در شرایط آزمایشگاه و گلخانه انجام گرفت. در این تحقیق آلودگی مصنوعی در شرایط آزمایشگاه با قرار دادن بذرهای جوانه‌زده گلرنگ داخل تشتک پتری حاوی کشت یک هفته‌ای قارچ روی محیط‌کشت PDA انجام و یک هفته بعد از مایه‌زنی، طول زخم ایجادشده روی ریشه اندازه‌گیری شد. آلودگی مصنوعی در شرایط گلخانه با قرار دادن دانه‌های گندم حاوی توده میسلیومی فوزاریوم در کنار طوقه گیاهچه‌های چهاربرگی انجام شد. تعداد بوته‌های زنده در دو مرحله، یکی پس از بوته میری ۵۰ درصد ژنوتیپ حساس (۷ روز پس از مایه‌زنی) و دیگری ۴۵ روز بعد از مایه‌زنی یادداشت‌برداری گردید. رقم کوسه حساس‌ترین و لاین KW11 متحمل‌ترین ژنوتیپ به بوته‌میری فوزاریومی بودند. رقم گل مهر (KW2) بعد از کوسه حساس‌ترین رقم شناخته شد.

در بررسی دیگری که توسط سینگ و همکاران در سال ۲۰۰۸ صورت گرفت، رقم Nira به‌عنوان شاهد حساس و HUS-305 به عنوان شاهد مقاوم به‌طور متوسط ۹۲ و ۲۲ درصد آلودگی داشتند. هیچ‌کدام از ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی، مصون از بیماری نبودند. شش ژنوتیپ شامل WR-11-4-6، WR-8-24-12، WR-8-19-10، WR-4-6-5، WR-5-20-10 و WR-8-17-9 نسبتاً مقاوم گزارش شدند (Singh *et al*., 2008). سازوکارهای مختلفی برای مقاومت گیاهان به بیمارگرهای قارچی ذکر شده‌اند. فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و ترکیبات فنلی در ارقام مقاوم در پاسخ به فعالیت بیمارگر *F. oxysporum* به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داده است (Madadkhah *et al*., 2015).

با در نظر گرفتن توسعه کشت گلرنگ در سال‌های اخیر به خصوص در مزارع دیم و در شرایط کم آبی، این محصول بیشتر از گذشته در معرض بیمارگر فوزاریوم قرار می‌گیرد بنابراین لازم است منابع ژنتیکی موجود از نظر سطوح مقاومت به بیمارگر یادشده مورد ارزیابی واقع شده و ارقام و ژنوتیپ‌های متحمل به بیماری در میان آنها مشخص شوند تا در شرایط مزرعه خسارت کمتری به زراعت این محصول وارد شود.

مواد و روش‌ها

جداسازی، شناسایی، خالص‌سازی و تکثیر قارچ‌های بیمارگر

بوته‌های آلوده گلرنگ از مزارع آزمایشی و ازدیادی در مزرعه ۴۰۰ هکتاری مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و نیز از مزارع آزمایشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی سیستان در زابل جمع‌آوری و به آزمایشگاه بیماری‌های گیاهی بخش تحقیقات دانه‌های روغنی منتقل شده و به قطعات کوچک نیم‌سانتی متری بریده و پس از شستشو با محلول مایع ظرفشویی با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی گردیدند. قطعات بافت‌های آلوده گیاهی پس از خشک شدن بر روی کاغذ صافی زیر هود لامینار به محیط‌کشت‌های عمومی مثل آرد ذرت آگار حاوی آنتی‌بیوتیک ریفامپیسین یا آمپی‌سیلین (50 mg/ml) منتقل شدند. در برخی موارد از قارچ‌کش پنتاکلرو نیترو بنزن[1] به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر محیط‌کشت استفاده گردید. تشتک‌های کشت‌شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی نگهداری شدند. پس از سه تا پنج روز، پرگنه‌های رشدیافته در اطراف قطعات آلوده به تشتک‌های حاوی محیط‌کشت‌های حداقلی مثل SNA[2] یا M-100 [3] واکشت شدند (Sadeghi Garmaroodi & Mansouri, 2016).

بیماری‌زایی قارچ‌های جداشده بر روی محیط‌کشت M-100

1- Penta chloro nitro benzene, PCNB
2- Spezieller Nahrstoffarmer agar, SNA
3- Minimal medium-100

انجام گرفت. بدین‌منظور، از هر جدایه سه تکرار بر روی محیط‌کشت تهیه و پس از ده روز، بذرهای جوانه زده گلرنگ به روی توده هیفی قارچ رشد یافته منتقل شدند. پس از ۵ روز یادداشت‌برداری بیماری زایی با استفاده از یک مقیاس ۵ قسمتی انجام پذیرفت. شناسایی گونه ها با استفاده از کلید لزلی و سامرل (Leslie & Summerel, 2006) انجام شد. در نهایت یک جدایه با بیماری‌زایی بالا از گونه *Fusarium oxysporum* با کد G186 که از سیستان جدا شده بود به‌عنوان جدایه معیار برای ارزیابی‌های مقاومت به‌کار رفت (داده‌های بیماریزایی و شناسایی قارچ عامل در این گزارش ارائه نشده‌اند). به منظور تولید زادمایه قارچ *F. oxysporum* f. sp. *carthami* (FOC) از محیط کشت M-100 استفاده گردید.

مواد گیاهی

در مجموع ۱۶ رقم و لاین گلرنگ به قارچ فوزاریوم در شرایط گلخانه ارزیابی شدند (جدول ۱). مواد مورد ارزیابی شامل هشت رقم که در داخل کشور توسط مؤسسات اصلاح و تهیه نهال و بذر و دیم معرفی شده‌اند، شش لاین انتخابی از میان ۱۲۰ لاین دریافتی از بانک ژن IPK در آلمان که در ارزیابی‌های مقدماتی صفات زراعی و تحمل به بیماری آنها ارزیابی گردیده بود و در مرحله گیاهچه‌ای دارای تحمل نسبی به فوزاریوم (*Fusarium solani*) بودند (Jabbari, *et al.*, 2022). به‌علاوه دو توده محلی اصفهان و قزاقی برای ارزیابی های گلخانه‌ای در نظر گرفته شدند (جدول ۱).

جدول ۱- ژنوتیپ‌های گلرنگ ارزیابی شده در این تحقیق

Table 1- Safflower genotypes evaluated in this research

ردیف No.	ژنوتیپ‌های گلرنگ Safflower genotypes	Description[1]
1	گلدشت Goldasht	تیپ رشدی بهاره، بی‌خار، گلچه قرمز، معرفی شده توسط مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر Spring type-Spineless-Red floret-release by SPII
2	صفه Soffeh	تیپ رشدی بهاره، بی‌خار، گلچه قرمز، معرفی شده توسط مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر Spring type-Spineless-Red floret-release by SPII
3	توده محلی اصفهان Esfahan landrace	تیپ رشدی بهاره، بی‌خار، گلچه قرمز، معرفی شده توسط مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر Spring type-Spineless-Red floret-release by SPII
4	گلمهر Golmehr	تیپ رشدی زمستانه، بی‌خار، گلچه قرمز، معرفی شده توسط مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر Winter type- Spineless- Red floret- released by SPII
5	پرنیان Parnian	تیپ رشدی بینابینی، بی‌خار، گلچه سفید، معرفی شده توسط مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر Intermediate type- Spineless- White floret- released by SPII
6	پدیده Padideh	تیپ رشدی زمستانه، خاردار، گلچه نارنجی، معرفی شده توسط مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر Winter type- Spiny- Orange floret- released by SPII
7	امیر Amir	تیپ رشدی بینابینی، بی‌خار، گلچه قرمز، معرفی شده توسط مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر Intermediate type- Spineless-Red floret- released by SPII
8	سینا Sina	تیپ رشدی بینابینی، خاردار، گلچه زرد یا نارنجی، معرفی شده توسط مؤسسه تحقیقات دیم کشور Intermediate type- Spiny- Yellow or orange floret- released by DARI
9	فرامان Faramaan	تیپ رشدی بینابینی، بی‌خار، گلچه قرمز، معرفی شده توسط مؤسسه تحقیقات دیم کشور Intermediate type- Spineless- Red floret- released by DARI
10	توده محلی قزاقی Ghazzaghi Landrace	تیپ رشدی بینابینی، خاردار، گلچه زرد، توده وارداتی از قزاقستان Intermediate type- Spiny- Yellow floret, Imported from Kazakhstan
11	لاین 72 Line 72	لاین خالص، خاردار، گلچه قرمز، با منشأ ژاپنی دریافت شده از مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی لایب نیتز، آلمان Japan "A"- Spiny- Yellow floret- received from IPK
12	لاین 105 Line 105	لاین خالص موین دودرا، بی‌خار، گلچه زرد، دریافت شده از مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی لایب نیتز آلمان Moyen Du Draa- Spineless – Yellow floret- received from IPK
13	لاین 109 Line109	لاین خالص، خاردار، گلچه نارنجی، دریافت شده از مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی لایب نیتز آلمان Spiny- Orange floret- received from IPK
14	لاین 111 Line 111	لاین خالص انتخابی اس۵۱، خاردار، گلچه زرد، دریافت شده از مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی لایب نیتز آلمان S51 Selection R.A.- Spiny- Yellow floret- received from IPK
15	لاین 136 Line 136	لاین خالص زعفرانی، بی‌خار، گلچه زرد، دریافت شده از مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی لایب نیتز آلمان Safaran (tadz.)- Spineless- Yellow floret- received from IPK
16	لاین 106 Line 160	لاین خالص، بی‌خار، گلچه نارنجی، دریافت شده از مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی لایب نیتز آلمان Spineless- Orange floret- received from IPK

1- SPII, DARI and IPK stand for Seed and Plant Improvement Institute, Dryland Agricultural Research Institute, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, respectively.

مایه‌زنی ژنوتیپ‌ها با قارچ FOC

مایه‌زنی ژنوتیپ‌های گلرنگ با روش دیسک قارچی درون گلدان‌های با قطر ۱۱ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر انجام گردید. خاک مورد استفاده مخلوطی از خاک مزرعه، ماسه و کوکوپیت به نسبت (۱:۱:۱) بوده و پس از اتوکلاو به مقدار ۱۵۰ میلی‌لیتر درون هر گلدان ریخته شدند. برای هر ژنوتیپ ۶ گلدان کاشته شد. سه گلدان برای شاهد بدون مایه‌زنی و سه گلدان برای مایه‌زنی با روش دیسک قارچی فراهم گردید. تشتک‌های پتری نه سانتی‌متری شیشه‌ای حاوی حدود ۱۵ میلی‌لیتر محیط‌کشت آگاردار M-100 با سوسپانسیون اسپور قارچ فوزاریوم مایه‌زنی و پس از سه روز پرگنه جوان قارچ بیمارگر به همراه محیط‌کشت آگاردار بر سطح خاک سترون در گلدان قرار گرفته و سپس ۵-۴ عدد بذر جوانه‌زده گلرنگ بر سطح توده قارچی قرار گرفته و در نهایت با لایه نازکی از خاک سترون پوشیده شدند. در هر گلدان ۵-۴ گیاهچه نگهداری شد (Walker & Schmitthener, 1984). گلدان‌ها به‌صورت طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه کاشته شدند. ۴۵ روز پس از مایه‌زنی، بوته‌ها را از گلدان خارج کرده و پس از شستشو با آب شهری، شدت بیماری بر روی ریشه و ساقه با مقیاس ۶ قسمتی به شرح زیر اندازه‌گیری شد.

۰- گیاه بدون علائم بیماری است.

۱- نکروز (تغییر رنگ) در مقطع عرضی طوقه مشاهده گردید.

۲- نکروز و فرورفتگی طوقه تا ابتدای ریشه توسعه یافته و فرورفتگی بر روی ریشه مشاهده گردید.

۳- نکروز طوقه در دو جهت به سمت ساقه و نیمی از طول ریشه توسعه یافته است.

۴- بیش از نیمی از ریشه تغییر رنگ داده و حجم ریشه کمتر از معمول می‌شود. طوقه کاملا پوسیده است.

۵- ریشه کوتاه شده و براحتی قطع می‌شود. مرگ بوته‌ها مشاهده می‌شود.

در ادامه، ارتفاع تک تک بوته‌ها، وزن توده بخش هوایی و وزن ریشه‌ها در هر گلدان اندازه‌گیری و میانگین هر تکرار محاسبه شد. برای انجام عملیات آماری صفات ارتفاع بوته‌ها، وزن توده بخش هوایی و وزن ریشه‌ها بین گلدان‌های شاهد (بدون مایه‌زنی) و تیمار مقایسه و درصد کاهش هر کدام از صفات یادشده برای هر تکرار محاسبه و در آزمون‌های آماری به‌کار رفت.

با توجه به کوتاه شدن بوته‌های آلوده در شرایط مزرعه و گلخانه، از حاصل‌ضرب این صفت کلیدی و شدت بیماری، شاخص بیماری تعریف گردید. این صفت جدید برای هر تکرار محاسبه و با آزمون‌های آماری برای مقایسه بین ژنوتیپ‌ها به‌کار رفت.

تجزیه و تحلیل های آماری

کلیه مراحل آماری در نرم‌افزار R صورت پذیرفت. جدول تجزیه واریانس برای همه صفات محاسبه و در مواردی که تفاوت‌های معنی‌دار وجود داشت، گروه‌بندی میانگین صفات با آزمون LSD انجام شد. تجزیه واریانس صفت شدت بیماری که به‌صورت ترتیبی بود با آزمون ناپارامتری کروسکال والیس انجام شد. خوشه‌بندی تفکیکی ژنوتیپ‌ها با استفاده از الگوریتم kmeans با روش لوید صورت گرفت.

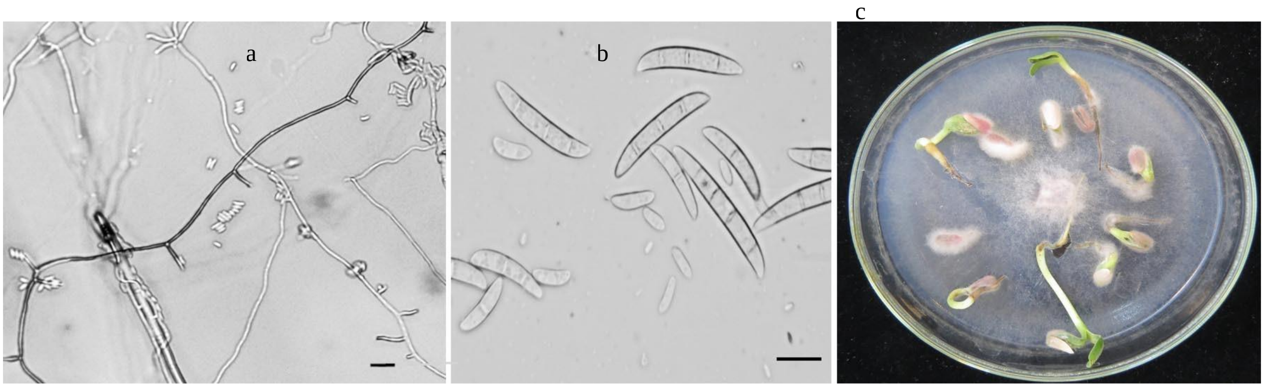
نتایج و بحث

جمع‌آوری و شناسایی نمونه‌های بیماری

بوته‌میری گلرنگ در هر شرایط آب و هوایی و در هر مرحله‌ی رشدی ممکن است رخ دهد. از آنجائی‌که گلرنگ عمدتاً در مناطق گرم و خشک کاشته می‌شود و گیاه به احتمال قوی با تنش خشکی و گرما روبرو می‌شود، بروز بوته‌میری در مزارع گلرنگ اجتناب‌ناپذیر است. علائم بیماری بر روی ساقه و ریشه به‌صورت بافت‌مردگی و تغییر رنگ بافت‌های آوندی بروز می‌کند. ریشه‌های فرعی از بین می‌روند و بوته‌ها دچار سبزخشکی و مرگ ناگهانی می‌شوند. بوته‌های آلوده ارتفاع کوتاه‌تری داشته و در ساعات گرم روز دچار پژمردگی می شوند. وجه تمایز پوسیدگی فوزاریومی با پوسیدگی زغالی ناشی از قارچ *Macrophomina phaseolina* در این بود که پوسیدگی اخیر باعث شکاف بر روی ساقه شده و مقطع عرضی ساقه و ریشه آلوده به رنگ خاکستری ظاهر می‌شود. در مجموع ۳۰ جدایه از دو منطقه برای آزمون‌های بیماری‌زایی و شناسایی مورد مطالعه قرار گرفتند که در نهایت جدایه G186 از گونه *F. oxysporum* f.sp. *carthami* برای مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. دو گونه *F. solani* و *F. verticillioides* نیز در این تحقیق شناسایی شدند. بنابراین انتظار می‌رود در صورت جمع‌آوری نمونه‌های بیشتری از کشور به‌خصوص از استان‌های فارس و اصفهان که از کانون‌های اصلی کشت این محصول در کشور هستند، گونه‌های بیشتری از فوزاریوم در مزارع آلوده شناسایی شوند. بهرحال آنچه در کارهای اصلاح به بیماری مهم هستند، تعیین گونه غالب در کشور است که امید می‌رود با ادامه این تحقیقات گونه غالب و مهم در کشور شناسایی گردد. گونه *F. oxysporum* به‌عنوان گونه غالب در اغلب تحقیقات خارجی (به‌خصوص در هند و آمریکا) معرفی شده است (Kukreja, 2018 ; Klisiewicz, 1980). به‌دلیل اهمیت این گونه در آمریکا در سال‌های نه چندان دور، نژادهای مختلف این گونه با استفاده از ارقام افتراقی تعیین شدند (Klisiewicz & Thomas 1970).

پس از اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های فوزاریوم بر روی رقم صفه،

شناسایی آنها با استفاده از معیارهای ریخت‌شناسی از جمله شکل و اندازه کنیدیوم و طول فیالید صورت گرفت (شکل ۱). جداسازی گونه های بیماری‌زای مختلف فوزاریوم از طوقه و ریشه گلرنگ یکی از چالش‌های اصلی اصلاح گلرنگ به این بیمارگر است. دو گونه *F. solani* و *F. verticillioides* به‌فراوانی از نمونه‌های آلوده گلرنگ جدا شدند که بیماری‌زایی قابل توجهی داشتند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). بنابراین لازم است که در تحقیقات آتی آزمون‌های ارزیابی مقاومت به این دو بیمارگر نیز صورت بگیرد.



شکل ۱- مشخصات میکروسکوپی و بیماریزایی قارچ FOC. الف. بیماریزایی قارچ بر روی رقم صفه ۵ روز پس از مایه‌زنی بر روی محیط کشت M-100. ب. میکرو و ماکروکنیدیوم‌های FOC. ج. فیالیدهای کوتاه در FOC. اندازه بار ۱۰ میکرومتر

Figure 1- Microscopic characterization and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *carthami* (FOC). A- Pathogenicity of the FOC on safflower cultivar, Soffeh, on M-100 medium 5 days after inoculation. B- Micro and macroconidia of FOC. C- Short phialids in FOC. Scale bar 10 um

ارزیابی ژنوتیپ‌های گلرنگ به قارچ FOC

تجزیه واریانس برای صفات درصد کاهش میانگین وزن بخش هوایی[1]، درصد کاهش میانگین وزن ریشه‌ها[2] و درصد کاهش میانگین ارتفاع گیاه[3] دارای تفاوت‌های معنی‌داری در سطح ۱ درصد در بین ژنوتیپ‌ها بودند ($p<0.01$). به‌نظر می‌رسد که آلوده‌سازی با دیسک آگار حاوی قارچ FOC توانسته است که تمایز بین ژنوتیپ‌ها را به خوبی نشان دهد. در مورد صفت شدت بیماری[4] که با یک مقیاس ۶ قسمتی اندازه‌گیری شد، از آزمون ناپارامتری کروسکال والیس استفاده گردید. مقدار مربع کای کروسکال والیس ۲۵/۹۰۵ بود که در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار آماری نشان می‌داد (p- value = 0.03902).

آزمون مقایسه میانگین با روش LSD برای صفت درصد کاهش وزن ریشه‌ها (RWR) در تیمارهای مایه‌زنی شده در مقایسه با شاهد، ژنوتیپ‌ها را در ۵ گروه از a تا e قرار داد. بیشترین درصد کاهش وزن ریشه‌ها در رقم صفه مشاهده شد. رقم گلدشت کمترین درصد کاهش وزن ریشه‌ها یا به‌عبارتی بیشترین سطح مقاومت به بیماری را نشان داد. توده بومی قزاقی و لاین ۷۲ به‌ترتیب در رده‌های بعدی سطوح مقاومت واقع شدند اگرچه تفاوت معنی‌داری با گلدشت نشان ندادند (جدول ۲).

مقایسه میانگین‌ها با روش LSD ژنوتیپ‌ها را از نظر درصد کاهش وزن توده بخش هوایی در مقایسه با شاهد مربوطه در سه گروه (a,b,c) دسته‌بندی کرد. رقم فرامان بیشترین درصد کاهش را از نظر این صفت داشت. لاین ۱۶۰، رقم پدیده و لاین ۱۱۱ به‌ترتیب در رتبه‌های بعدی از نظر حساسیت ریشه به این بیماری قرار گرفتند. بهرحال هر چهار ژنوتیپ یادشده در یک گروه آماری واقع شدند (جدول ۲).

مقایسه میانگین درصد کاهش ارتفاع گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد مربوطه با استفاده از آزمون LSD، ژنوتیپ‌ها را در ۶ گروه از a تا f گروه‌بندی کرد. در نتیجه این صفت توانسته بود تفکیک بیشتری در میان ژنوتیپ‌ها ایجاد کند. لاین ۱۱۱ بیشترین درصد کاهش ارتفاع و در نتیجه حساس‌ترین واکنش را نشان داد. ارقام پدیده و گل‌مهر از این نظر به‌ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. رقم گلدشت کمترین واکنش را به صفت کاهش ارتفاع ناشی از بیماری نشان داد و تفاوت معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها داشت (جدول ۲).

مقایسه شاخص بیماری (DI) بین ژنوتیپ‌ها نشان داد که رقم گلدشت دارای پایین‌ترین نرخ آلودگی به فوزاریوم بوده و لاین‌های ۱۶۰ و ۱۳۶ به‌ترتیب در رده‌های بعدی قرار دارند بنابراین دارای بیشترین سطوح مقاومت به قارچ FOC هستند (شکل ۲). دو لاین اخیر در آزمایش‌های قبلی نیز شدت بیماری کمتری نسبت به سایر لاین‌های مورد ارزیابی نشان دادند (گزارش‌های علمی منتشر نشده). رقم پدیده دارای بیشترین حساسیت به بیماری تعیین گردید.

1- Plant biomass reduction percent, PBR
2- Root weight reduction percent, RWR
3- Plant height reduction percent, PHR
4- Disease severity, DS

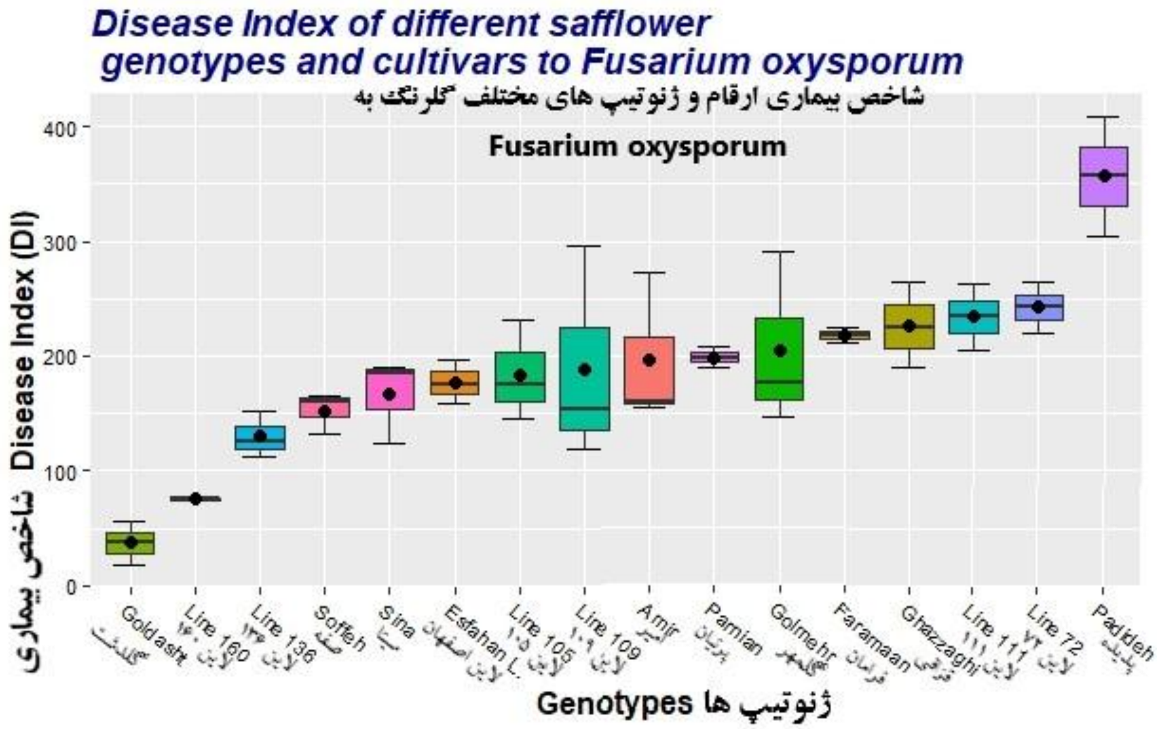
جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مرتبط با بیماری پوسیدگی ریشه فوزاریومی ژنوتیپ‌های گلرنگ در شرایط گلخانه

Table 2- Comparison of the traits related to Fusarium root rot in safflower genotypes in greenhouse condition

ژنوتیپ‌ها Genotypes	درصد کاهش وزن ریشه RWR %[1]	درصد کاهش وزن بیومس بخش هوایی PBR %[2]	درصد کاهش ارتفاع PHR %[3]	شدت بیماری DS[4]	شاخص بیماری DI[5]
گلدشت Goldasht	54.40e	18.43c	14.99f	2.39	36.86e
صفه Soffeh	153.55a	32.54bc	44.59e	3.42	152.68bcd
توده محلی اصفهان Isfahan landrace	117.32bc	49.11ab	52.12de	3.42	177.07bcd
گلمهر Golmehr	88.03cde	43.93abc	80.60abc	2.56	204.73abc
پرنیان Parnian	87.57cde	47.24ab	59.13cde	2.5	198.95abc
پدیده Padideh	98.28bcd	61.75a	94.67ab	3.17	300.98a
امیر Amir	113.65bc	56.08ab	68.71bcde	2.89	196.17abc
سینا Sina	125.30ab	50.27ab	74.82abcd	2.25	166.48bcd
فرامان Faraaman	104.46bcd	64.80a	73.55bcd	2.33	218.08abc
توده محلی قزاقی Ghazzaghi	75.17de	44.83abc	69.89bcde	3.44	226.16abc
لاین 72 Line 72	77.75de	41.39abc	68.65bcde	2.5	242.30ab
لاین 105 Line 105	109.09bcd	38.98abc	68.72bcde	2.69	184.19bcd
لاین 109 Line109	98.35bcd	56.48ab	69.24bcde	2.64	188.90bc
لاین 111 Line 111	97.19bcd	60.97a	101.22a	3.08	233.99abc
لاین 136 Line 136	91.74bcd	56.92ab	50.19de	2.58	129.70cde
لاین 160 Line 160	107.38bcd	62.80a	53.36de	1.17	75.07de
p-value	0.0012	0.0033	2.95×10^{-7}	0.03902	5.6×10^{-5}
CV	20.77	24.82	18.6	33.2	26.75
LSD	34.52	27.28	27.15	-	109.65

۱- RWR، درصد کاهش وزن ریشه. ۲- PBR، درصد کاهش وزن بیوماس گیاهی. ۳- PHR، درصد کاهش ارتفاع گیاه. ۴- DS، شدت بیماری که با یک مقیاس ۶ بخشی شرح داده‌شده در مواد و روشها اندازه گیری شد. ۵- DI، شاخص بیماری که از حاصلضرب شدت بیماری در ارتفاع گیاه محاسبه گردید

1- RWR: root weight reduction percent.; 2- PBR: plant biomass reduction percent.; 3- PHR: plant height reduction percent.; 4-DS: disease severity recorded by a 6-parts disease scale explained in the material and methods.;5-DI: disease index calculated by multiplication of disease severity per height



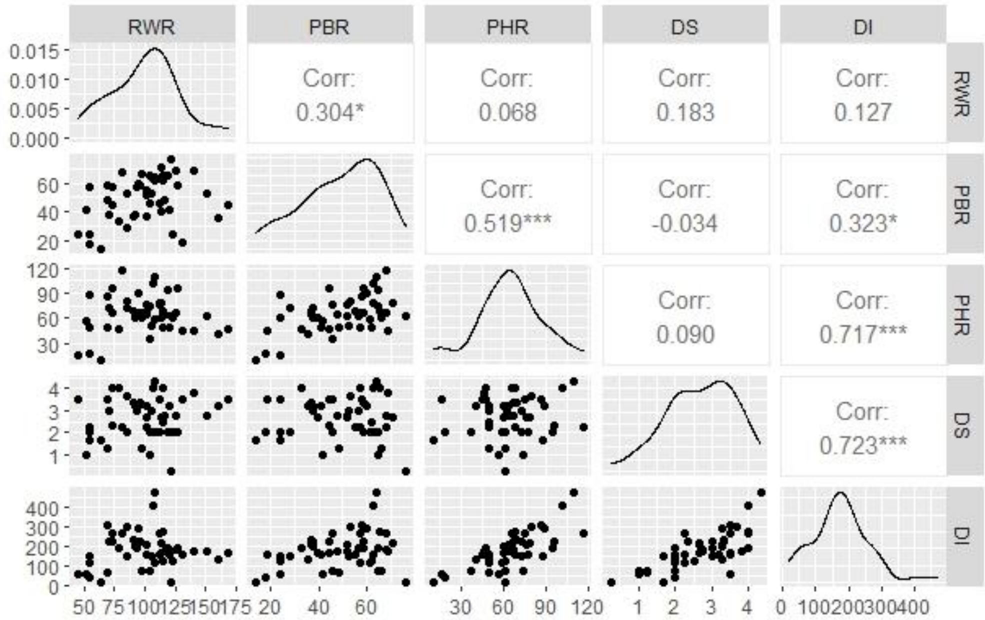
شکل ۲- مقایسه شاخص بیماری بین ژنوتیپ‌های گلرنگ مایه‌زنی شده با قارچ *F. oxysporum* f.sp. *carthami*

Figure 2- Comparison of disease index among safflower genotypes inoculated with *F. oxysporum* f.sp. *carthami*

آزمون همبستگی پیرسون بین ۵ صفت اندازه‌گیری شده حاکی از وجود همبستگی معنی‌دار بین شاخص بیماری با شدت بیماری و درصد کاهش ارتفاع بوته‌های تیمارشده بود (r= 0.72). ارتباط معنی داری هم بین درصد کاهش وزن توده بخش هوایی با درصد کاهش ارتفاع گیاه مشاهده گردید (r=0.52). درصد کاهش وزن توده بخش هوایی نیز با شاخص بیماری همبستگی معنی‌داری داشت (r = 0.32) (شکل ۳).

خوشه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از ۵ صفت یادشده نشان داد که می‌توان ۱۶ ژنوتیپ مورد آزمایش را می‌توان به ۴ گروه مختلف تقسیم‌بندی کرد (شکل ۴). با استفاده از این خوشه‌بندی بیش از ۷۰ درصد از پراکندگی داده‌ها بر روی دو مؤلفه پوشش داده شده‌اند. در این خوشه‌بندی، ارقام گلدشت، لاین ۱۶۰ و لاین ۱۳۶ در یک خوشه قرار گرفتند. این خوشه در واقع دارای بیشترین سطح تحمل به بیماری بودند. ارقام صفه و سینا، لاین محلی اصفهان و لاین ۱۰۵ در یک خوشه و ارقام امیر، گل مهر، پرنیان و فرامان و همچنین لاین ۱۰۹ در یک خوشه دیگر قرار گرفتند. این دو خوشه اخیر کمی با یکدیگر همپوشانی داشتند. در نهایت ارقام حساس پدیده، توده محلی قزاقی، لاین ۷۲ و لاین ۱۱۱ در خوشه جداگانه‌ای واقع شدند (شکل ۴). این خوشه‌بندی را احتمالا می‌توان به‌عنوان دسته‌بندی واکنش ژنوتیپ‌های گلرنگ به بیماری در نظر گرفت.

روش‌های متعددی برای مایه‌زنی گلرنگ با زادمایه قارچ فوزاریوم گزارش شده است. یکی از اهداف این تحقیق دستیابی به روشی برای مایه‌زنی بود که به‌سادگی انجام‌پذیر بوده و نتایج آن قابل تکرار باشد. روش دیسک میسلیومی قارچ فوزاریوم برای مایه‌زنی گیاهچه‌ها در خاک روشی است که از مایه‌زنی گیاهچه‌های سویا با فیتوفترا اقتباس شده است و در این تحقیق توانست تفاوت‌های معنی‌داری در صفات مختلف ایجاد کند. به‌علاوه در این روش توده یکنواختی از قارچ بر روی بذرهای جوانه‌زده قرار می‌گیرد در حالیکه استفاده از دانه‌های سورگوم حاوی میسلیومی قارچی ممکن است غلظت زادمایه روی بذرهای سورگوم که به گیاهچه‌های گلرنگ می‌رسند، یکسان نباشد. لازم به ذکر است که همزمان روش مایه‌زنی طوقه گیاهچه‌ها با دانه‌های سورگوم حاوی توده قارچی در این تحقیق انجام گرفت (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). روش اخیر در تحقیقات ناصحی و همکاران (Nasehi *et al.*, 2009) و شریف‌نبی و سعیدی (Sharifnabi & Saeidi, 2004) به‌کار رفته است. مایه‌زنی با دانه‌های سورگوم در این تحقیق نتوانست تفاوت‌های معنی‌داری در صفات مرتبط با بیماری ایجاد نماید. اگرچه شدت آلودگی در برخی تکرار بالا بود. استفاده از عصاره توده قارچی به‌دلیل داشتن توکسین‌های قارچی برای مایه‌زنی گیاهچه‌های گلرنگ در شرایط درون شیشه‌ای ممکن است روش مفیدی باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد (Kukreja *et al.*, 2018).

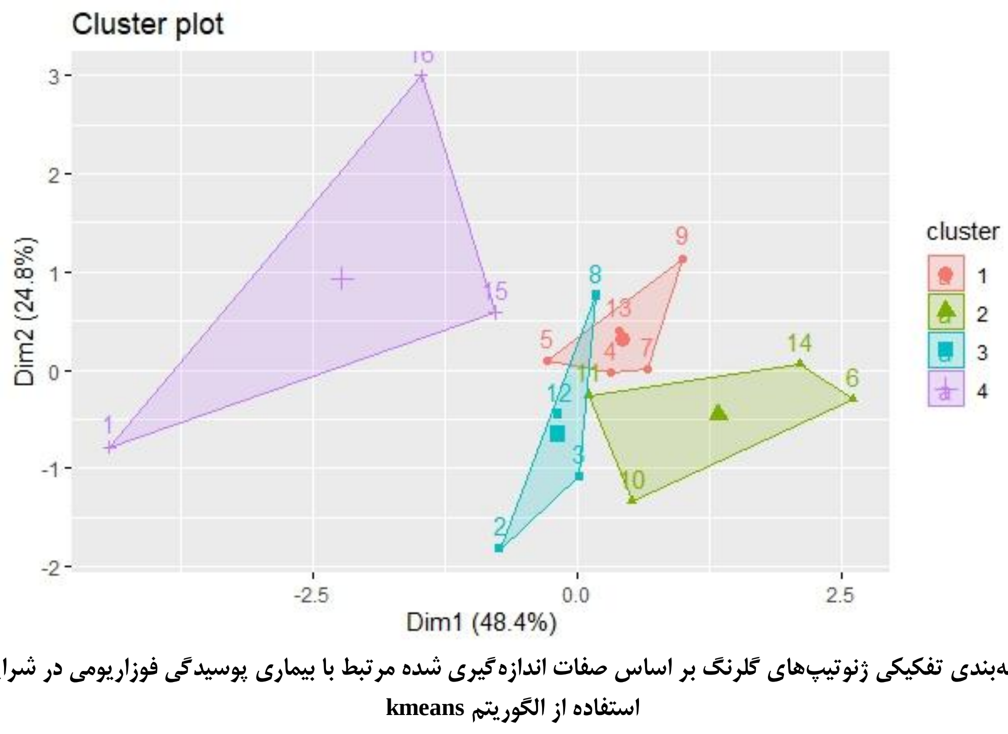


شکل ۳- آزمون همبستگی بین صفات مختلف اندازه‌گیری شده مرتبط با بیماری پوسیدگی ریشه فوزاریومی در بین ژنوتیپ‌های گلرنگ

RWR، PBR، PHR، DS و DI به‌ترتیب به درصد کاهش وزن ریشه، درصد کاهش بیوماس گیاهی، درصد کاهش ارتفاع گیاه، شدت بیماری و شاخص بیماری اشاره دارند.

Figure 3- Correlation test of different traits related to Fusarium root rot in safflower genotypes

RWR, PBR, PHR, DS and DI refer to root weight reduction percent, plant biomass reduction percent, plant height reduction percent, disease severity and disease index, respectively.



شکل ٤- خوشه‌بندی تفکیکی ژنوتیپ‌های گلرنگ بر اساس صفات اندازه‌گیری شده مرتبط با بیماری پوسیدگی فوزاریومی در شرایط گلخانه با استفاده از الگوریتم kmeans

شماره ژنوتیپ‌های مشخص شده در شکل به‌ترتیب ذکرشده در جدول ۱ می‌باشند.

Figure 4- Partitional clustering of safflower genotypes based on the Fusarium rot related characters measured in the greenhouse using kmeans algorithm

Genotype numbers are in the same order as mentioned in table 1

از بین صفات مختلفی که همراه با بیماری اندازه‌گیری شدند، کوتولگی گیاهان مایه‌زنی شده ممکن است به‌عنوان صفت مهمی در میزان شدت حساسیت ژنوتیپ‌ها به بیماری باشد. این ویژگی گیاهان آلوده در مزرعه نیز مشاهده شده است (مشاهدات شخصی). اهمیت این صفت به‌اندازه‌ای است که در برخی تحقیقات مثل فیتوفترای سویا و سفیدک آفتابگردان، شاخص بیماری با استفاده از این ویژگی تعریف شده است (Walker & Schmitthener, 1984). با توجه به تغییرات بالای شدت بیماری بین ژنوتیپ‌ها در این تحقیق (ضریب تغییرات ۳۳ درصد) و نیز نتایج متفاوتی که با مایه‌زنی گیاهچه‌ها با روش سورگوم بدست آمدند، لازم بود که شاخص بیماری جدیدی با استفاده از شدت بیماری تعریف گردد.

با توجه به بذرزاد بودن بیماری، ضدعفونی بذرها اقدامی مهم در کاهش شیوع بیماری در سال‌های آتی است. ممکن است برخی روش‌های قدیمی مثل حرارت درمانی که هم اکنون نیز مورد استفاده هستند (Roberts, 2009). در مورد این بیماری مؤثر واقع شود که نیاز به آزمایش‌های مقدماتی برای اعمال این روش وجود دارد و در ادامه این تحقیقات می‌توان به آن پرداخت.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از نتایج یک پروژه مصوب بر روی بیماری‌های گلرنگ تحت عنوان " بررسی واکنش تعدادی از ژنوتیپ‌های گلرنگ به بوته‌میری‌های مهم قارچی در شرایط گلخانه" با شماره مصوب ۹۹۰۵۵۰-۰۴۲-۰۳-۰۳-۲ در سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی بوده است.

References

1. Anonymous. (2019). FAO Statistics Service. http://www.faostat.org/. retrived on September 11, 2021.
2. Abdollahi, M., & Fassihiani, A. (1995). A new form of *Fusarium solani* from safflower. Proceedings of the 12th Iranian Plant Protection Congress, 2 –7 Sept., Karaj, Iran: 113. (In Persian with English abstract)
3. Behdad, E. (1990). Disease of field crops in Iran (2nd Ed.). Neshat Publication, Esfahan. 424 pages. (In Persian)
4. Emongor, V., & Oagile, D.O. (2017). *Safflower production*. Impression House Publication, Gaborone, ISBN 978-99968-0-607-0.
5. Ershad, D. (2009). Fungi of Iran (3rd ed.). Agricultural Research, Education and Extension Organization, Iranian Research Institute of Plant Protection. 558 page. (In Persian)
6. Jabbari, H., Fanaei, H., Shariati, F., Sadeghi Garmaroodi, H., Abasali, M., & Omidi, A.H. (2022). Principal components analysis of some Iranian and foreign safflower genotypes using morphological and agronomic traits. *Journal of Crops Improvement*, *24*, 125-143. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/jci.2021.324606.2559
7. Kizil, S., Cakmak, O., Kirici, S., & Inan, M. (2008). A comprehensive study of safflower (*Carthamus tinctorius*, L.) in semi-arid condition. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, *22*(4), 947-953. https://doi.org/10.1080/13102818.2008.10817585
8. Klisiewicz, J.M., & Thomas, C.A. (1970). Race determination in *Fusarium oxysporum* f.sp. *carthami*. *Phytopathology*, *60*, 1706. https://doi.org/10.1094/Phyto-60-1706
9. Klisiewicz, J.M. (1980). Safflower germplasm resistant to Fusarium wilt. *Plant Disease*, *64*, 876-877. https://doi.org/10.1094/PD-64-876
10. Kukreja, B., Joshi, G., Sharma, E., Kapoor, R., Goel, S., Jagannath, A., Kumar, A., & Agarwal, M. (2018). Standardization of hydroponics based procedure for high-throughput screening and its application for identification of differential host response in Safflower against *Fusarium oxysporum* f.sp. *carthamii*. *International Journal of Plant Research*, *31*, 5. https://doi.org/10.5958/2229-4473.2018.00049.6
11. Leslie, J.F., & Summerell, B.A. (2006). *The fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing, USA. 388 pp. ISBN: 978-0-813-81919-8.
12. Madadkhah, E., Nasertorabi, M., Shoorooei, M., Moghbeli, E., Lotfi, M., & Banihashemi, Z. (2015). Enzymatic activities and secondary metabolite contents in roots of melon genotypes infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *28*, 459-466. https://doi.org/10.22067/jpp.v28i4.45302
13. Nasehi, A., Shafizadeh, S., Rezaie, S., & Shahsavari, R. (2009). Evaluation of relative resistance of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes to Fusarium root rot disease in Isfahan province. *Seed and Plant Journal*, *25*, 623-634. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/SPIJ.2017.110983
14. Raghuwanshi, K.S., Dake, G.N., Mate, S.N., & Naik, R.M. (2008). Pathogenic variations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *carthami*. *Journal of Plant Disease Science*, *3*, 241–242.
15. Razavi, S.E., & Pahlavani, M.H. (2004). Isolation of the causal of charcoal rot disease of safflower and resistance of some cultivars to the disease. 16th Iranian Plant Protection Congress, 28 Aug.-1 Sept. 2004, Tabriz, Iran. (In

Persian with English abstract)
16. Roberts, S.J. (2009). Eradication of seedborne plant pathogens. XLII Brazilian phytopathology congress, Rio de Janeiro. Tropical Plant Pathology supplement.
17. Sadeghi Garmaroodi, H., & Mansouri, S. (2016). Reaction of improved sesame lines and cultivars to fusarium wilt at *in vitro* and greenhouse conditions. *Journal of Applied Researches in Plant Protection, 5,* 59-70. (In Persian with English abstract)
18. Sastry, R.K., & Chattopadhyay, C. (2003). Development of Fusarium wilt resistant genotypes in safflower (*Carthamus tinctorius*). *European Journal of Plant Pathology, 109*, 147–151. https://doi.org/10.1023/A:1022502618887
19. Schwartz, H.F., & Gent, D.H. (2005). Safflower, Fusarium Wilt. High plains IPM guide, a cooperative effort of the Uninversity of Wyoming, University of Nebraska, Colorado State University and Montana State University.
20. Sharifnabi, B., & Saeidi, G. (2004). Preliminary evaluation of different genotypes of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to *Fusarium* root rot disease. *Journal of Water and Soil Science*, *8*(3), 219-227. (In Persian with English abstract)
21. Singh, N., & Kapoor, R. (2018). Quick and accurate detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *carthami* in host tissue and soil using conventional and real-time PCR assay. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 34,* 175. https://doi.org/10.1007/s11274-018-2556-y
22. Singh, V., Renaware, A.M., & Nimbkar, N. (2008). Breeding for Fusarium wilt resistance in Safflower. In: Knights, S.E. and Potter, T.D.(Eds). Safflower: Unexploited potential and world adaptability. Proceedings of the 7th International Safflower Conference, Wagga Wagga, New South Wales, Australia.
23. Velasco, L., & Fernandez-Martinez, J. (2001). Breeding for oil quality in safflower. In Proceedings of the 5th International Safflower Conference, Williston, N.D., and Sidney, M.T. July 23–27, 2001. Bergman, J.W. and H.H. Mundel, Eds., pp. 133–137.
24. Walker, A.K., & Schmitthener, A.F. (1984). Comparison of field and greenhouse evaluations for tolerance to Phytophthora rot in soybean. *Crop Science, 24,* 487-489. https://doi.org/cropsci1984.0011183X002400030013x